

PCT ORGANIZACION MUNDIAL DE LA PROPIEDAD INTELECTUAL
Oficina Internacional
SOLICITUD INTERNACIONAL PUBLICADA EN VIRTUD DEL TRATADO DE COOPERACION
EN MATERIA DE PATENTES (PCT)



<p>(51) Clasificación Internacional de Patentes ⁶ : A61K 47/24, 47/36</p>	<p>A1</p>	<p>(11) Número de publicación internacional: WO 96/37232</p> <p>(43) Fecha de publicación internacional: 28 de Noviembre de 1996 (28.11.96)</p>		
<table style="width: 100%; border: none;"> <tr> <td style="width: 45%; border: none; vertical-align: top;"> <p>(21) Solicitud internacional: PCT/ES96/00116</p> <p>(22) Fecha de la presentación internacional: 24 de Mayo de 1996 (24.05.96)</p> <p>(30) Datos relativos a la prioridad: P 9501035 26 de Mayo de 1995 (26.05.95) ES</p> <p>(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US): UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA [ES/ES]; Praza do Obradoiro, Pazo de San Xerome, E-15705 Santiago de Compostela (ES).</p> <p>(72) Inventores; e</p> <p>(75) Inventores/solicitantes (sólo US): ALONSO FERNANDEZ, María José [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES). CALVO SALVE, Pilar [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES). REMUÑAN LOPEZ, Carmen [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES). VILA JATO, José Luis [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES).</p> </td> <td style="width: 55%; border: none; vertical-align: top;"> <p>(81) Estados designados: CA, JP, US, Patente europea (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Publicada Con informe de búsqueda internacional. Con reivindicaciones modificadas y declaración.</p> </td> </tr> </table>			<p>(21) Solicitud internacional: PCT/ES96/00116</p> <p>(22) Fecha de la presentación internacional: 24 de Mayo de 1996 (24.05.96)</p> <p>(30) Datos relativos a la prioridad: P 9501035 26 de Mayo de 1995 (26.05.95) ES</p> <p>(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US): UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA [ES/ES]; Praza do Obradoiro, Pazo de San Xerome, E-15705 Santiago de Compostela (ES).</p> <p>(72) Inventores; e</p> <p>(75) Inventores/solicitantes (sólo US): ALONSO FERNANDEZ, María José [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES). CALVO SALVE, Pilar [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES). REMUÑAN LOPEZ, Carmen [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES). VILA JATO, José Luis [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES).</p>	<p>(81) Estados designados: CA, JP, US, Patente europea (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Publicada Con informe de búsqueda internacional. Con reivindicaciones modificadas y declaración.</p>
<p>(21) Solicitud internacional: PCT/ES96/00116</p> <p>(22) Fecha de la presentación internacional: 24 de Mayo de 1996 (24.05.96)</p> <p>(30) Datos relativos a la prioridad: P 9501035 26 de Mayo de 1995 (26.05.95) ES</p> <p>(71) Solicitante (para todos los Estados designados salvo US): UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA [ES/ES]; Praza do Obradoiro, Pazo de San Xerome, E-15705 Santiago de Compostela (ES).</p> <p>(72) Inventores; e</p> <p>(75) Inventores/solicitantes (sólo US): ALONSO FERNANDEZ, María José [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES). CALVO SALVE, Pilar [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES). REMUÑAN LOPEZ, Carmen [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES). VILA JATO, José Luis [ES/ES]; Universidade de Santiago de Compostela, Depto de Farmacología, Facultade de Farmacia, E-15706 Santiago de Compostela (ES).</p>	<p>(81) Estados designados: CA, JP, US, Patente europea (AT, BE, CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, PT, SE).</p> <p>Publicada Con informe de búsqueda internacional. Con reivindicaciones modificadas y declaración.</p>			
<p>(54) Title: STABILIZATION OF COLLOIDAL SYSTEMS BY THE FORMATION OF IONIC LIPID-POLYSACCHARIDE COMPLEXES</p> <p>(54) Título: ESTABILIZACION DE SISTEMAS COLOIDALES MEDIANTE FORMACION DE COMPLEJOS IONICOS LIPIDO-POLISACARIDO</p> <p>(57) Abstract</p> <p>Stabilization of colloidal systems through the formation of ionic lipid-polysaccharide complexes. There is disclosed a process for the preparation of colloidal systems which includes the incorporation of a water soluble and positively charged amino polysaccharide and a negatively charged phospholipid. The colloidal systems (which comprise polymer nanoparticles, nanocapsules and nano-emulsions) are stabilized through the formation of a ionic complex, at the interface, comprised of the aminopolysaccharide and the phospholipid. The colloidal systems are characterized in that they have a particle size lower than 1 μm, an electric positive charge and an exceptional stability during storage. They are lyophilizable so that they can be dry stored and redispersed subsequently while maintaining the original characteristics of the system. They are useful as pharmaceutical forms for the oral, transdermic, topical, ocular, nasal and vaginal administration of medicaments. They are also useful as forms for cosmetic use.</p> <p>(57) Resumen</p> <p>Estabilización de sistemas coloidales mediante formación de complejos iónicos lípido-polisacárido. Desarrollo de un procedimiento para preparar sistemas coloidales que comprende incorporar en él una combinación de un aminopolisacárido soluble en agua y de carga positiva y un fosfolípido de carga negativa. Los sistemas coloidales (dentro de los cuales se incluyen nanoemulsiones, nanocápsulas y nanopartículas poliméricas) se estabilizan mediante la formación de un complejo iónico, a nivel interfacial, constituido por el aminopolisacárido y el fosfolípido. Los sistemas coloidales se caracterizan por presentar un tamaño de partícula inferior a 1 μm, una carga eléctrica positiva y una estabilidad excepcional durante el almacenamiento. Son liofilizables, lo que permite su conservación en seco y su posterior redispersión manteniendo las características originales del sistema. Ofrecen interés como formas farmacéuticas para la administración de medicamentos por las vías oral, transdérmica, tópica, ocular, nasal y vaginal. Además ofrecen interés como formas de uso cosmético.</p>				

UNICAMENTE PARA INFORMACION

Códigos utilizados para identificar a los Estados parte en el PCT en las páginas de portada de los folletos en los cuales se publican las solicitudes internacionales en el marco del PCT.

AM	Armenia	GB	Reino Unido	MW	Malawi
AT	Austria	GE	Georgia	MX	México
AU	Australia	GN	Guinea	NE	Níger
BB	Barbados	GR	Grecia	NL	Países Bajos
BE	Bélgica	HU	Hungría	NO	Noruega
BF	Burkina Faso	IE	Irlanda	NZ	Nueva Zelanda
BG	Bulgaria	IT	Italia	PL	Polonia
BJ	Benín	JP	Japón	PT	Portugal
BR	Brasil	KE	Kenya	RO	Rumania
BY	Belarús	KG	Kirguistán	RU	Federación Rusa
CA	Canadá	KP	República Popular Democrática de Corea	SD	Sudán
CF	República Centroafricana	KR	República de Corea	SE	Suecia
CG	Congo	KZ	Kazajistán	SG	Singapur
CH	Suiza	LI	Liechtenstein	SI	Eslovenia
CI	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SK	Eslovaquia
CM	Camerún	LR	Liberia	SN	Senegal
CN	China	LT	Lituania	SZ	Swazilandia
CS	Checoslovaquia	LU	Luxemburgo	TD	Chad
CZ	República Checa	LV	Letonia	TG	Togo
DE	Alemania	MC	Mónaco	TJ	Tayikistán
DK	Dinamarca	MD	República de Moldova	TT	Trinidad y Tabago
EE	Estonia	MG	Madagascar	UA	Ucrania
ES	España	ML	Mali	UG	Uganda
FI	Finlandia	MN	Mongolia	US	Estados Unidos de América
FR	Francia	MR	Mauritania	UZ	Uzbekistán
GA	Gabón			VN	Viet Nam

TITULO

Estabilización de sistemas coloidales mediante formación de complejos iónicos lípido-polisacárido.

5

DESCRIPCIÓN

Estabilización de sistemas coloidales mediante formación de complejos iónicos lípido-polisacárido. Desarrollo de un procedimiento para preparar sistemas coloidales que comprende incorporar en él una combinación de un aminopolisacárido soluble en agua y de
10 carga positiva y un fosfolípido de carga negativa. El procedimiento es de aplicación en la estabilización de nuevas formas farmacéuticas y cosméticas de naturaleza coloidal. Estas formas farmacéuticas incluyen nanoemulsiones de aceite en agua, nanocápsulas constituidas por un núcleo oleoso envuelto por una cubierta polimérica, y nanopartículas poliméricas. En todas estas formas existe una fase dispersa constituida por glóbulos de aceite, nanocápsulas
15 o nanopartículas y una fase dispersante de naturaleza acuosa. El procedimiento propuesto se caracteriza por la inclusión de la lecitina como agente tensoactivo de carácter lipofílico y aniónico en la fase dispersa, y la inclusión del quitosano como agente suspensor de carácter hidrofílico y catiónico en la fase dispersante.

La lecitina es una sustancia de origen natural cuyo componente principal es la
20 fosfatidilcolina (fosfolípido de carácter neutro) y cuyos componentes secundarios son la fosfatidiletanolamina, fosfatidilserina y ácido fosfatídico (fosfolípidos de carga negativa). En la actualidad se puede disponer de variedades de lecitina que difieren en cuanto a su procedencia (soja, huevo, tejidos orgánicos) y contenido en fosfatidilcolina.

El quitosano es un polímero de origen natural que se obtiene mediante un proceso
25 de deacetilación de la quitina (molécula que se extrae del caparazón de los crustáceos); presenta una estructura aminopolisacarídica de carácter catiónico. En la actualidad se puede disponer de diversas variedades de quitosano en el mercado, incluyendo quitosanos de diferentes pesos moleculares y distinto grado de deacetilación; además se puede presentar bajo la forma de quitosano base o sal (clorhidrato o glutamato de quitosano).

30 Los sistemas coloidales propuestos presentan como componentes distintivos la lecitina y el quitosano, confiriéndoles carga superficial positiva y mejorando su estabilidad.

El resto de los componentes serán dependientes del tipo de sistema y serán un aceite en el caso de las nanoemulsiones, un aceite y un polímero hidrofóbico en el caso de las nanocápsulas, y un polímero hidrofóbico en el caso de las nanopartículas. En estos sistemas se pueden incluir medicamentos, proteínas y otros componentes biológicos de posible interés en medicina o cosmética. En consecuencia su aplicación como nuevas formas de administración en humanos se extiende al campo de la medicina y la cosmetología.

Un importante problema técnico asociado a la utilización de sistemas coloidales en el campo de la medicina y cosmetología es el relacionado con su inestabilidad tanto tras su administración in vivo como durante su almacenamiento. Ciertamente, la mayoría de los sistemas coloidales desarrollados presentan una carga superficial negativa de modo que tras su puesta en contacto con determinados componentes biológicos de carácter catiónico sufren un proceso de coalescencia que conlleva a la destrucción del sistema. Igualmente, la liofilización de estos sistemas, en particular las nanocápsulas y nanoemulsiones, entraña notables dificultades por lo que han de ser almacenados en suspensión acuosa. Esta necesidad de almacenamiento en forma de suspensión acuosa se traduce, al cabo de un cierto período de tiempo (meses), en la desestabilización del sistema. Los sistemas propuestos en la presente invención presentan una carga superficial positiva y una excepcional estabilidad durante el almacenamiento y en presencia de componentes biológicos, resuelven por lo tanto, los problemas mencionados.

En la literatura existen diversas patentes y un elevado número de publicaciones que describen diversos métodos de elaboración de sistemas coloidales entre los que se incluyen nanopartículas, nanocápsulas, nanoemulsiones y microemulsiones. Dichos métodos de elaboración no son, por consiguiente, el objeto de esta patente sino mas bien la inclusión o incorporación en este tipo de sistemas de dos componentes específicos, la lecitina y el quitosano. Estos procedimientos están basados en la utilización de una fase oleosa que se dispersa en una fase acuosa gracias a la utilización de uno o varios agentes tensoactivos. Dentro de los agentes tensoactivos de tipo lipofílico utilizados con anterioridad destacan de modo especial las lecitinas procedentes de diferentes fuentes naturales. Las lecitinas tienen como componente principal la fosfatidilcolina y como componentes secundarios diversos fosfolípidos de carga negativa, como consecuencia, cualquier sistema coloidal en cuya composición entran lecitinas tiene una carga superficial negativa. Una de las limitaciones de

estos sistemas coloidales, cuya carga superficial es negativa, radica en su tendencia a la coalescencia. Con el objeto de soslayar esta limitación, se han diseñado emulsiones con carga neta positiva que han sido patentadas recientemente. Estas emulsiones se basan en el empleo de agentes tensoactivos lipofílicos de carácter catiónico por lo que son introducidos
5 en la fase interna de la emulsión (S. Benita, Oil-in water emulsions of positively charged particles WO 93/18852)

Contrariamente a lo descrito con anterioridad, la presente invención se centra en la utilización de un polisacárido hidrofílico de carácter catiónico, más en concreto el quitosano, el cual se disuelve en la fase acuosa dispersante y un lípido de carácter aniónico, más en concreto la lecitina, que se disuelve en la fase dispersa. De este modo, al poner en contacto
10 dichas fases, se produce la interacción entre ambos componentes a nivel interfacial, formando así una película interfacial que previene la coalescencia de los glóbulos que constituyen la fase dispersa. Dicho proceso de interacción de los fosfolípidos con el quitosano a nivel interfacial ha sido descrito con anterioridad por otros autores que trabajaron en la estabilización de emulsiones no submicrométricas (P. Faldt, B. Bergenstahl,
15 P. M. Claesson, Stabilization by chitosan of soybean oil emulsions coated with phospholipid and glycocholic acid, Colloids Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects 71, 187-195, 1993) y de liposomas (I. Henriksen, G. Smistad and J. Karlsen, Interactions between liposomes and chitosan, Int. J. Pharm., 101, 227-236, 1994). Sin embargo, no se ha encontrado
20 información relativa a la aplicación de dicha interacción para la estabilización de sistemas coloidales tipo nanoemulsión, nanocápsula y nanopartícula. Por otro lado, es de destacar el hecho de que, hasta el momento, la liofilización de sistemas coloidales tipo nanocápsula o emulsión requiere la utilización de elevadísimas concentraciones de azúcares, (R. J. Gautier and R. S. Levinson, Lyophilized emulsion compositions and method, South Africa patent
25 No. 864032) mientras que en los sistemas tipo nanocápsula propuestos en la presente invención la crioprotección del sistema durante la liofilización se consigue mediante concentraciones de polisacáridos relativamente bajas (inferiores a un 10 %).

Los sistemas recogidos en esta invención presentan numerosas ventajas sobre otros previamente descritos siendo la característica distintiva la formación de un complejo iónico
30 en la interfaz del sistema. Dichas ventajas incluyen: (1) permiten la obtención de emulsiones y suspensiones de nanocápsulas y de nanopartículas que son estables durante su

almacenamiento a temperatura ambiente durante varios meses, (2) las suspensiones de nanocápsulas aquí descritas son liofilizables, lográndose su perfecta reconstitución tras la rehidratación del producto liofilizado, (3) las suspensiones de nanocápsulas aquí descritas, recubiertas de quitosano, son mas estables en presencia de cationes biológicos que las nanocápsulas convencionales no recubiertas de quitosano (4) las partículas o glóbulos en suspensión presentan una carga eléctrica positiva, lo que facilita su interacción con superficies biológicas (ej. epitelios) con carga superficial negativa.

La presente invención describe nuevos sistemas de interés en terapéutica y cosmética. Estos sistemas pueden presentarse bajo una forma líquida de viscosidad variable, semisólida (tipo crema) o sólida, es decir como polvo liofilizado redispersable.

La fase interna o fase dispersa del sistema puede estar formada por un aceite o un polímero o ambos simultáneamente y como componente característico presenta un fosfolípido aniónico. Dicha fase puede contener proporciones variables de un ingrediente activo. Los aceites pueden ser de tipo vegetal ej. cacahuete, algodón, oliva, ricino, etc., o de origen semisintético como son los derivados polioxietilenados de aceites naturales (Migliol®, Labrafil®, Labrafac®...) y dotados de H.L.B. (balance hidrofília-lipofília) muy variable. El polímero puede ser cualquier polímero hidrofóbico de aplicación farmacéutica o cosmética. Este polímero hidrofóbico puede encontrarse en proporciones variables con respecto al aceite desde un 0 % hasta un 100 %. Cuando la proporción de polímero es del 0 % la fase dispersa estará formada por glóbulos de aceite, constituyendo así una emulsión submicroscópica (nanoemulsión) mientras que cuando dicha proporción es del 100 %, la fase dispersa estará constituida por partículas sólidas (nanopartículas o nanosferas). Para proporciones intermedias, la fase oleosa estará dispersa o envuelta por el polímero constituyendo pequeñas cápsulas o reservorios, formando el conjunto del sistema una suspensión de nanocápsulas.

La fase externa es de tipo acuoso y su componente específico es el quitosano. Si se desea liofilizar la suspensión coloidal se habrán de incorporar en la fase acuosa externa agentes crioprotectores como son el dextrano y la glucosa. Por último, se podrá incluir en dicha fase cualquier excipiente hidrofílico capaz de suministrar una cierta densidad o viscosidad a la preparación, así como también agentes bacteriostáticos para prevenir la

contaminación de la preparación, sustancias odorizantes así como también ingredientes activos de carácter hidrofílico.

La composición de estos sistemas puede formularse de tal modo que contengan uno o más ingredientes activos que pueden ser de carácter lipofílico o hidrofílico. Si el
5 ingrediente activo es lipofílico irá disuelto en el aceite o en el polímero. Como ingrediente activo se entiende aquél para el que se diseña la formulación, es decir aquél que ha de desempeñar una determinada función tras su administración a un organismo vivo. La función puede ser la de combatir, paliar o prevenir una enfermedad (ej. vacunas, vitaminas, ...), mejorar el aspecto físico y estético (ej. hidratación de la piel, prevención o facilitación de la
10 caída del cabello) y similares.

La ciclosporina A, un péptido inmunomodulador y la indometacina (anti-inflamatorio) y el metipranolol (beta-bloqueante), han sido ejemplos de medicamentos ensayados en esta invención.

La característica común a todos los sistemas desarrollados es su naturaleza coloidal,
15 lo cual implica que su tamaño de partícula es inferior a 1 μm . Las tablas 1 y 2 muestran el tamaño de partícula de nanocápsulas, nanoemulsiones (tabla 1) y nanopartículas (tabla 2), conteniendo el aceite Migliol[®] 840 y elaboradas con distinta proporción de poliepsiloncaprolactona, lecitina de soja y dextrano.

Como se mencionó anteriormente, una de las ventajas de los nuevos sistemas
20 recogidos en la presente invención radica en su carga positiva, aspecto que confiere a estos sistemas una mayor estabilidad en contacto con medios acuosos que contienen cationes, así como una interacción facilitada con superficies epiteliales aniónicas. Como se muestra en la tabla 3 los valores de potencial Z obtenidos para estas formulaciones están comprendidos entre +30 y +60 mV, estando el valor de dicho potencial en relación con el peso molecular
25 del quitosano.

La estructura interna de estos sistemas dispersos es variable y depende de su composición específica, si bien en todos los casos el factor común será la presencia de quitosano y lecitina. De este modo, se distingue una estructura tipo reservorio con un núcleo oleoso cuando no existe polímero o existe en baja proporción y una estructura tipo matricial
30 cuando las partículas tienen una consistencia más sólida debido a que la proporción del aceite es inferior a la del polímero.

La redispersabilidad de los sistemas coloidales tras su liofilización es una de las grandes ventajas de los sistemas recogidos en esta invención. En las tablas 3 y 4 se recogen los tamaños de partícula y de potencial Z para diversas preparaciones de nanocápsulas antes y después de la liofilización.

5 El procedimiento descrito en esta invención permite preparar una nueva composición farmacéutica, dermatológica o cosmetológica que puede ser utilizada para su administración por diferentes vías incluyendo tópica, oral, nasal, pulmonar, vaginal y subcutánea. Los ingredientes específicos de esta nueva composición aportan al sistema una carga superficial positiva y una estabilidad mejorada no únicamente durante su
10 almacenamiento sino también tras su liofilización y posterior rehidratación.

Tabla 1: Tamaño de partícula de las nanocápsulas de poliepsiloncaprolactona (PECL)
15 conteniendo Migliol® 840 y preparadas con una concentración de quitosano (Seacure® 123) de 0,2 % (p/v).

% Lecitina (p/v)	% Dextrano (p/v)	% PECL (p/v)		
		0	1	2
0,5	1	340 ± 23	361 ± 22	353 ± 21
0,5	2	278 ± 43	324 ± 28	292 ± 38
1	1	324 ± 23	384 ± 5	313 ± 19
1	2	313 ± 11	303 ± 28	318 ± 24
1,5	1	314 ± 19	341 ± 18	346 ± 20
1,5	2	284 ± 12	321 ± 10	339 ± 13

Tabla 2: Tamaño de partícula de las nanopartículas de PECL preparadas con una concentración de quitosano (Seacure 223[®]) de 0,2 % (p/v).

% Lecitina (p/v)	% Dextrano (p/v)	% PCL (p/v)	
		1	2
0,5	1	290 ± 16	308 ± 15
0,5	2	286 ± 12	296 ± 20
1	1	330 ± 15	330 ± 2
1	2	299 ± 16	317 ± 10
1,5	1	337 ± 10	355 ± 19
1,5	2	326 ± 18	332 ± 12

5

Tabla 3: Potencial Z de las nanocápsulas de poliepsiloncaprolactona (PECL) y nanoemulsiones conteniendo Migliol[®] 840 y preparadas con una concentración de quitosano (Seacure[®] 320) de 0,2 % (p/v).

10

% Lecitina (p/v)	Potencial Z (mV)		
	Nanoemulsiones	Nanocápsulas	
		PECL 1%	PECL 2 %
0,5	+ 52 ± 2	+ 60 ± 1	+ 60 ± 1
1	+ 60 ± 1	+ 61 ± 1	+ 60 ± 0.07
1,5	+ 59 ± 0.3	+ 59 ± 2	+ 61 ± 0.4

15

Tabla 4: Tamaño de partícula de las nanocápsulas de poliepsiloncaprolactona (PECL) conteniendo Migliol® 840 y preparadas con una concentración de quitosano (Seacure 223® viscosidad 100 cps y Seacure 320®, viscosidad 680 cps) de 0,2 % (p/v) antes y después de un proceso de liofilización. Concentración final de PECL y de lecitina en la suspensión: 1% y 0,5% (p/v) respectivamente.

Quitosano viscosidad (cps)	% Dextrano (p/v)	Tamaño de partícula (nm)	
		Antes liofilización	Después liofilización
100	1	459 ± 23	487±19
100	2	472 ± 8	462 ± 19
680	1	443 ± 30	475 ± 30
680	2	461 ± 13	505 ± 16

10

Ejemplo 1:

- Preparación de una formulación de nanocápsulas de Migliol® 840 y de poliepsiloncaprolactona.

15 Se prepararon nanocápsulas de poliepsiloncaprolactona conteniendo los ingredientes siguientes (% p/p):

- Aceite, Migliol® 840 0,5
- Lecitina de soja 1,0
- Poliepsiloncaprolactona 1,0
- 20 Dextrano 1,0
- Quitosano 0,2
- Agua hasta 100 %

Se preparó una solución acuosa ácida (ácido acético 0,05 M) de dextrano y quitosano ajustándola a pH 5. Se preparó una solución acetónica (25 ml) que contenía el aceite Migliol[®] 840, el tensoactivo lecitina de soja y el polímero poliepsiloncaprolactona. La solución acetónica se incorporó a la solución acuosa que se encontraba bajo agitación magnética y 3 min. más tarde el conjunto se introdujo en un rotavapor para proceder a la eliminación de la acetona. Una vez obtenidas las nanocápsulas se determinó su tamaño de partícula y potencial Z, obteniendo unos valores para los citados parámetros 385 nm y de + 45 mV, respectivamente.

Finalmente se incorporó glucosa al 5 % previamente a su liofilización. Una vez transcurrido el proceso de liofilización las nanocápsulas fueron resuspendidas en un volumen de agua igual al volumen inicial y se determinó nuevamente el tamaño de partícula y potencial Z. Los resultados fueron 359 nm y + 42 mV.

15

Ejemplo 2:

- Preparación de una formulación de nanocápsulas de Migliol[®] 840 y de poliepsiloncaprolactona.

Se preparó una formulación similar a la descrita en el ejemplo 1 pero conteniendo una cantidad inferior de lecitina y una superior de aceite. El procedimiento fue idéntico al descrito anteriormente.

	Aceite, Migliol [®] 840	1,5
	Lecitina de soja	0,5
25	Poliepsiloncaprolactona.....	1,0
	Dextrano	1,0
	Quitosano	0,2
	Agua	hasta 100 %

Los resultados de tamaño de partícula y potencial Z fueron 433 nm y + 32 mV antes de la liofilización y 582 nm y + 43 mV después del proceso de liofilización.

Ejemplo 3:

- Preparación de una formulación de una nanoemulsión de aceite de Migliol 840.

Se preparó una formulación similar a la descrita en el ejemplo 1 pero carente del
5 polímero poliepsiloncaprolactona. El procedimiento fue idéntico al descrito anteriormente.

10

Aceite, Migliol® 840	0,5
Lecitina de soja	1,0
Dextrano	1,0
Quitosano	0,2
Agua	hasta 100 %

Los resultados de tamaño de partícula y potencial Z fueron 463 nm y + 42 mV.

REIVINDICACIONES

- 1.- Estabilización de sistemas coloidales mediante formación de complejos iónicos lípido-polisacárido. Un procedimiento para preparar sistemas coloidales, tipo nanoemulsión, nanocápsula y nanopartícula, que comprende incorporar en él una combinación de un aminopolisacárido soluble en agua y de carga positiva y un fosfolípido de carga negativa.
- 2.- Un procedimiento según la reivindicación 1 en el que la combinación se incorpora en dos fases que comprenden una de ellas una solución orgánica del fosfolípido y otros aditivos y la otra una solución acuosa del aminopolisacárido.
- 3.- Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que el aminopolisacárido se escoge entre el quitosano o sus derivados, en particular sales o ésteres.
- 4.- Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que el fosfolípido se escoge entre la lecitina y sus derivados.
- 5.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque la concentración de quitosano con respecto a la fase acuosa total puede llegar al 2 %, de preferencia comprendida entre 0,05 y 0,5 % (p/p).
- 6.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque la concentración de lecitina con respecto a la fase acuosa total puede llegar al 5 %, de preferencia comprendida entre 0,2 a 1,0 % (p/p).
- 7.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque el sistema coloidal es una nanoemulsión que contienen un aceite vegetal o semisintético, disperso en una fase acuosa, en proporciones variables e inferiores al 1 %.
- 8.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 7, caracterizado porque se incluye en la composición destinada a formar una suspensión de nanocápsulas un poliéster en proporciones variables e inferiores al 4 %.
- 9.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque se incluye en la composición destinada a formar una suspensión de nanopartículas un poliéster en proporciones variables e inferiores al 4 %.
- 10.- Un procedimiento según la reivindicación 7, caracterizado porque se incluye en la composición destinada a formar una suspensión de nanocápsulas un agente activo

complementario, en particular escogido entre la indometacina, el metipranolol, el diazepam y la ciclosporina A.

11.- Un procedimiento según la reivindicación 8, caracterizado porque se incluye en la composición destinada a formar una suspensión de nanocápsulas ingredientes
5 complementarios, en particular dextrano en una proporción del 1-2 % y glucosa en una proporción del 5 %, permitiendo así la liofilización de las nanocápsulas y posterior resuspensión en agua.

12.- Un procedimiento según la reivindicación 9, caracterizado porque se incluye en la composición destinada a formar una suspensión de nanopartículas un agente activo
10 complementario, como es la indometacina.

13.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 y 2 caracterizado porque en la composición del sistema coloidal entran ingredientes no tóxicos y compatibles con su aplicación por una vía tópica, oral, nasal, vaginal y pulmonar, presentando las partículas coloidales una elevada carga positiva que facilita su interacción con epitelios y mucosas.

REIVINDICACIONES MODIFICADAS

[recibidas por la oficina Internacional el 21 de octubre de 1996 (21.10.96);
reivindicaciones originales 1-13 reemplazadas por las reivindicaciones 1-13
modificadas (2 paginas)]

- 1.- Un procedimiento para preparar suspensiones coloidales de partículas de tamaño $< 1 \mu\text{m}$ destinadas a la liberación de principios activos y que se caracterizan por estar las citadas partículas estabilizadas y recubiertas por una película formada por la combinación de un aminopolisacárido soluble en agua y de carga positiva y un fosfolípido de carga negativa.
- 2.- Un procedimiento según la reivindicación 1 en el que la formación y el recubrimiento de las partículas se origina espontánea y simultáneamente tras la puesta en contacto de dos fases líquidas miscibles, siendo una de ellas, una solución orgánica del fosfolípido y otros aditivos, y la otra, una solución acuosa del aminopolisacárido y otros aditivos.
- 3.- Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que el aminopolisacárido se escoge entre el quitosano o sus derivados, en particular sales o ésteres.
- 4.- Un procedimiento según la reivindicación 2, en el que el fosfolípido se escoge entre la lecitina y sus derivados.
- 5.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 4, caracterizado porque la concentración del aminopolisacárido con respecto a la fase acuosa total puede llegar al 2 %, de preferencia comprendida entre 0,05 y 0,5 % (p/p).
- 6.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 5, caracterizado porque la concentración del fosfolípido con respecto a la fase acuosa total puede llegar al 5 %, de preferencia comprendida entre 0,2 a 1,0 % (p/p).
- 7.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque la suspensión es una nanoemulsión que se obtiene tras la incorporación, a la fase acuosa, de un aceite vegetal o semisintético disuelto en la fase orgánica, estando dicho componente en proporciones variables e inferiores al 1 % con respecto a la fase acuosa total de la suspensión.
- 8.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque la suspensión coloidal es una suspensión de nanocápsulas que se obtiene tras la incorporación, a la fase acuosa, de un aceite vegetal o semisintético y de un poliéster

disueltos en la fase orgánica. Dichos componentes se encuentran en proporciones variables e inferiores con respecto a la fase acuosa de la suspensión del 1 % y 4 %, respectivamente.

5 9.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 a 6, caracterizado porque la suspensión coloidal es una suspensión de nanopartículas que se obtiene tras la incorporación, a la fase acuosa, de un poliéster disuelto en la fase orgánica, estando dicho componente en proporciones variables e inferiores al 4 %.

10 10.- Un procedimiento según la reivindicación 1 a 9, caracterizado porque se incluye en la composición de las suspensiones coloidales un principio activo complementario que es incorporado a la fase acuosa, disuelto o disperso en la fase orgánica y que se encuentran en proporciones variables con respecto a la fase acuosa de la suspensión.

15 11.- Un procedimiento según la reivindicación 8, caracterizado porque se incluye en la composición destinada a formar una suspensión de nanocápsulas ingredientes complementarios, en particular dextrano en una proporción del 1-2 % y glucosa en una proporción del 5 %, permitiendo así la liofilización de las nanocápsulas y posterior resuspensión en agua.

12.- Un procedimiento según la reivindicación 1 a 11, caracterizado porque los principios activos son la indometacina, el metipranolol, el diazepam y la ciclosporina A.

20 13.- Un procedimiento según las reivindicaciones 1 y 2 caracterizado porque en la composición del sistema coloidal entran ingredientes no tóxicos y compatibles con su aplicación por una vía tópica, oral, nasal, vaginal y pulmonar, presentando las partículas coloidales una elevada carga superficial positiva que facilita la interacción de las partículas con epitelios y mucosas.

25

DECLARACION SEGUN EL ARTICULO 19

Las reivindicaciones presentadas en la solicitud original PCT/ES 96/00116 numeradas de 1 a 13 (páginas 11 y 12 de la memoria) contiene la misma numeración pero con el texto modificado según se indica en la Declaración.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.

PCT/ES96/00116

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

Int.Cl.6 A61K 47/24, 47/36

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

Int.Cl.6 A61K

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

CIBEPAT, EPODOC, WPIL, PAJ, CA, MEDLINE, PHAR, BIOSIS, TXTEP1.

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
X	EP-0486959-A (VECTORPHARMA INTERNATIONAL, S.P.A.) 27.05.92, example 10.	1-6,9,12,13
A	Fäldt, P. et al. "Stabilization by chitosan of soybean oil emulsions coated with phospholipid and glycocholic acid". (1993) COLLOIDS AND SURFACES A: PHYSICOCHEMICAL AND ENGINEERING ASPECTS", vol 71,pp.:187-195, the whole document.	1-13

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C.☒ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:

"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance

"E" earlier document but published on or after the international filing date

"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)

"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means

"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed

"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention

"X" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone

"Y" document of particular relevance: the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art

"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search

08 August 1996 (08.08.96)

Date of mailing of the international search report

21 August 1996 (21.08.96)

Name and mailing address of the ISA/

S.P.T.O.

Authorized officer

Facsimile No.

Telephone No.

International application No.
PCT/ES 96/00116

Form PCT/ISA/210 (patent family annex) (July 1992)

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Solicitud internacional n°
PCT/ES 96/00116

A. CLASIFICACIÓN DEL OBJETO DE LA SOLICITUD

CIP⁶ A61K 47/24, 47/36

De acuerdo con la Clasificación Internacional de Patentes (CIP) o según la clasificación nacional y la CIP.

B. SECTORES COMPRENDIDOS POR LA BÚSQUEDA

Documentación mínima consultada (sistema de clasificación, seguido de los símbolos de clasificación)

CIP⁶ A61K

Otra documentación consultada, además de la documentación mínima, en la medida en que tales documentos formen parte de los sectores comprendidos por la búsqueda

Bases de datos electrónicas consultadas durante la búsqueda internacional (nombre de la base de datos y, si es posible, términos de búsqueda utilizados)

CIBEPAT, EPODOC, WPIL, PAJ, CA, MEDLINE, PHAR, BIOSIS, TXTEPI.

C. DOCUMENTOS CONSIDERADOS RELEVANTES

Categoría*	Documentos citados, con indicación, si procede, de los pasajes relevantes	Nº de las reivindicaciones a que se refieren
X	EP-0486959-A (VECTORPHARMA INTERNATIONAL, S.P.A.) 27.05.92, ejemplo 10.	1-6, 9, 12, 13
A	Fäldt, P. et al. "Stabilization by chitosan of soybean oil emulsions coated with phospholipid and glycocholic acid". (1993) COLLOIDS AND SURFACES A: PHYSICO-CHEMICAL AND ENGINEERING ASPECTS", vol 71, pp.:187-195, todo el documento.	1-13



En la continuación del recuadro C se relacionan otros documentos



Los documentos de familia de patentes se indican en anexo

* Categorías especiales de documentos citados:

"A" documento que define el estado general de la técnica no considerado como particularmente relevante.

"E" documentos anterior publicado en la fecha de presentación internacional o en fecha posterior.

"L" documento que puede plantear dudas sobre una reivindicación de prioridad o que se cita para determinar la fecha de publicación de otra cita o por una razón especial (como la indicada).

"O" documento que se refiere a una divulgación oral, a una utilización, a una exposición o a cualquier otro medio.

"P" documento publicado antes de la fecha de presentación internacional pero con posterioridad a la fecha de prioridad reivindicada.

"T" documento ulterior publicado con posterioridad a la fecha de presentación internacional o de prioridad que no pertenece al estado de la técnica pertinente pero que se cita por permitir la comprensión del principio o teoría que constituye la base de la invención.

"X" documento particularmente relevante: la invención reivindicada no puede considerarse nueva o que implique una actividad inventiva por referencia al documento aisladamente considerado.

"Y" documento particularmente relevante: la invención reivindicada no puede considerarse que implique una actividad inventiva cuando el documento se asocia a otro u otros documentos de la misma naturaleza, cuya combinación resulta evidente para un experto en la materia.

"&" documento que forma parte de la misma familia de patentes.

Fecha en que se ha concluido efectivamente la búsqueda internacional.

08 Agosto 1996 (08.08.96)

Fecha de expedición del informe de búsqueda internacional

21 Agosto 1996 (21.08.96)

Nombre y dirección postal de la Administración encargada de la búsqueda internacional O.E.P.M.
C/Panamá 1, 28071 Madrid, España.
nº de fax +34 1 3495304

Funcionario autorizado

ALFONSO MAQUEDANO

nº de teléfono +34 1 3495474

INFORME DE BÚSQUEDA INTERNACIONAL

Información relativa a miembros de familias de patentes

Solicitud internacional n°

PCT/ES 96/00116

Documento de patente citado en el informe de búsqueda	Fecha de publicación	Miembro(s) de la familia de patentes	Fecha de publicación
EP-0486959-A	27.05.92	US-5536508-A IT-1243390-A JP-4283510-A	16.07.96 10.06.94 08.10.92
<hr/>			